

FACULTE DE MEDECINE

KREMLIN-BICETRE

UNIVERSITE PARIS XI

ANNEE 1971

THESE

N^o

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

P A R

Henry NATAF

Né le 3 décembre 1940 à TUNIS (Tunisie)

Ancien Externe des Hôpitaux de PARIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE :

DEVELOPPEMENTS RECENTS CONCERNANT LES MECANISMES

DE REPARATION ENZYMATIQUE DES RADIOLESIONS

DU GENOME ET LEURS RELATIONS AVEC LE XERODERMA

PIGMENTOSUM

Président : M. TUBIANA, Professeur

EDITIONS MEDICALES



ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

**FACULTE DE MEDECINE
KREMLIN-BICETRE
UNIVERSITE PARIS XI**

ANNEE 1971

THESE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

P A R

Henry NATAF

Né le 3 décembre 1940 à TUNIS (Tunisie)

Ancien Externe des Hôpitaux de PARIS

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE :

DEVELOPPEMENTS RECENTS CONCERNANT LES MECANISMES

DE REPARATION ENZYMATIQUE DES RADIOLESIONS

DU GENOME ET LEURS RELATIONS AVEC LE XERODERMA

PIGMENTOSUM

Président : M. TUBIANA, Professeur

EDITIONS MEDICALES



ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

UNIVERSITEIT
NEDERLANDSE
FACULTEIT D. MEDICINE

THESE

DOCTORAT EN MEDICINE



Je remercie vivement Monsieur le Professeur M. TUBIANA d'avoir bien voulu me faire l'honneur de présider le Jury et de m'avoir considérablement aidé dans ma Bibliographie.

J'exprime toute ma reconnaissance à Madame GARCIA-CALDERON, Chef de Service à l'Hôpital TENON, pour les conseils et encouragements qu'elle n'a cessé de me prodiguer tout au long de mon travail.

Je remercie aussi Messieurs les Biochimistes P. COHEN, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de ROUEN, de m'avoir suggéré le sujet du présent travail et J. LAVAL, Chargé de Recherches au C. N. R. S., d'avoir bien voulu l'examiner.

Je sais gré aux Services de Dermatologie de SAINT-LOUIS et de Radiothérapie de TENON, d'avoir mis leurs documentations à ma disposition.

PREMIERE PARTIE

"Mécanismes enzymatiques de réparation de l'ADN"

Notre but est de faire ici le point des connaissances sur la capacité importante de l'Acide Désoxyribonucléique, qui est celle de sa propre réparation par l'intermédiaire de systèmes enzymatiques et qui vient donc s'ajouter à sa capacité de se répliquer (Réplication) et de transcrire l'information génétique en acide ribonucléique (Transcription).

Cette fonction est-elle physiologique ? Probablement, car on a bien mis en évidence et isolé des enzymes de réparation; ces protéines enzymatiques étant programmées et codées par l'acide désoxyribonucléique lui-même.

Nous examinerons dans cet exposé, dans une première partie les aspects biochimiques et génétiques de la réparation, en faisant une large part aux travaux et hypothèses qui ont précédé toutes ces données nouvelles et en soulignant au passage l'action des agents chimiques et mutagènes, capables d'annihiler ou de favoriser l'aptitude à la réparation de l'ADN. Puis, dans une seconde partie, nous étudierons à partir d'observations personnelles et rapportées et en analysant les travaux les plus récents effectués dans ce domaine, le Xeroderma Pigmentosum, maladie qui paraît être associée à une carence de cette fonction de réparation de l'ADN.

I - INTRODUCTION

Il y a moins d'une génération, on croyait encore que les effets de rayonnements sur les systèmes vivants étaient des effets directs, immédiats, irréparables et définitifs.

C'est le physicien Crowther qui propose dès 1924, la théorie de la cible, qui a dominé jusque vers 1954, les conceptions sur les mécanismes fondamentaux relatifs à la production des effets biologiques par les rayonnements ionisants.

Cette conception consiste à assimiler la cellule ou tout système biologique, à un système possédant un certain nombre de sites privilégiés, sur lesquels un ou plusieurs coups au but (ionisations) doivent être portés pour qu'apparaisse une lésion observable, considérée comme immédiate et irréversible. La théorie de la cible ignorait l'action indirecte des radiations : les tissus animaux comportant 80 à 95 % d'eau, les ionisations ont plus de chance de se produire sur les molécules d'eau du solvant. Il se forme ainsi de l'eau activée qui réagit à son tour sur les molécules nobles dissoutes.

Dès 1942, Dale montra que les produits de radiolyse de l'eau pouvaient inhiber des enzymes vitaux pour la cellule. Dès lors, on ne pouvait plus attribuer uniquement à un effet direct les modifications chimiques introduites par le rayonnement dans les systèmes biologiques.

D. Lea en 1946, tenta d'étendre la théorie de la cible à tous les systèmes biologiques. En fait, les mutations des gènes paraissaient s'accorder

avec les exigences mathématiques de la cible, qu'un événement suffit à inactiver; la mort des bactéries et autres cellules fut également considérée alors, comme un phénomène à un coup, résultant d'une mutation létale.

A. Hollaender porta le coup de grâce à une généralisation abusive de la théorie de la cible, laquelle impliquerait qu'une fois la cible atteinte, l'inactivation devait intervenir sans autre étage intermédiaire. Il confirma en effet, que des modifications du milieu de culture, réalisées après irradiation, pouvaient affecter considérablement la mortalité bactérienne.

Dès 1959, des recherches importantes furent effectuées sur le mécanisme de formation des radiolésions au niveau cellulaire et sub-cellulaire, et sur le mécanisme des traitements modificateurs de la radiorésistance naturelle.

Alexander et Jacob en 1959 démontrèrent que, dans des conditions expérimentales parfaitement comparables, de grandes différences de radiosensibilité naturelle s'observaient effectivement chez les microorganismes, exposés au rayonnement X. Ils examinèrent alors les facteurs susceptibles d'expliquer ces différences de radiosensibilité indéniables. D'une manière très logique, ils s'intéressèrent d'abord à ceux qui risquaient d'affecter directement l'ADN nucléaire, puisque la capacité de former des colonies après irradiation était liée à une réplication de l'ADN, en absence de mutations létales.

Enfin, ils confirmèrent la non-validité pour ces microorganismes de la théorie "traditionnelle" de la cible, puisque les microorganismes les plus sensibles ne contenaient pas davantage d'ADN que les autres.

En 1961, J.A. Cohen suggéra l'existence possible d'enzymes spécifiques : les Désoxyribonucléases (DNases) actives seulement vis à vis d'ADN modifié par irradiation. Les remarques de J.A. Cohen trouvèrent leur confirmation récemment dans les travaux de Rörsch, démontrant que certains extraits enzymatiques microbiens sont aptes à restaurer in vitro l'ADN, d'une

forme répliquative du phage à ADN monocaténaire X 174, et par les travaux de J.C. Kaplan, S.R. Kushner et L. Grossman, sur la purification des deux nucléases intervenant dans le mécanisme de réparation de l'ADN : l'endonucléase et l'exonucléase.

En 1962, Dupuy et Trémeau parvenaient à obtenir des souches de lactobacillacées environ deux à quatre fois plus radiorésistantes après 30 expositions successives à des doses identiques de rayonnement gamma de cobalt 60. Ces nouvelles souches apparaissent stables et conservent les caractéristiques métaboliques de la souche sauvage d'origine.

La même année, E. Moustacchi et H. Markovich démontrèrent la possibilité de produire artificiellement des mutants microbiens, résistants au rayonnement X par désintégration de Phosphore radioactif ^{32}P , préalablement incorporé *in vivo*.

Ainsi fut comprise progressivement la double fonction de l'ADN : celle de sa propre répliquative et celle de la biosynthèse des macromolécules enzymatiques catalysant toute l'activité métabolique de la cellule.

De ce fait l'attention fut attirée sur les effets de rayonnement au niveau des interactions moléculaires spécifiques, étudiées par la physico-chimie moléculaire. Les connaissances acquises en biologie moléculaire fournissaient une nouvelle base de départ aux recherches radiobiologiques.

II - DONNEES RECENTES SUR LA FONCTION DE REPARATION ENZYMATIQUE DE L'ADN

L'existence d'une nouvelle fonction de l'ADN, celle d'auto-réparation par voie enzymatique sous contrôle génétique apporte enfin à la Radiobiologie, la base moléculaire qui lui manquait pour sortir de la nuit "phénoménologique"

où elle s'était enfoncée après l'abandon de la généralisation de la théorie de Léa, faute de preuves expérimentales.

Ce sont les recherches de Setlow et de ses collaborateurs (1963 - 1964) au Département de Biologie de Oak-Ridge, qui fournirent les premières preuves expérimentales de l'existence d'un mécanisme moléculaire pour la réparation *in vivo* à l'obscurité des radiolésions UV de l'ADN, chez "Escherichia Coli".

Setlow et Carrier, ainsi que Boyce et Howard-Flanders proposèrent un mécanisme de réparation, selon lequel la région endommagée de l'ADN était excisée et remplacée par des nucléotides normaux, dont la séquence était copiée sur le brin complémentaire intact de l'ADN.

Pettitjohn et Hanawalt du Laboratoire de Biophysique de l'Université de Stanford, confirmèrent qu'il en était bien ainsi expérimentalement, faisant la distinction entre la fonction de replication normale de l'ADN (semi-conservatrice) et cette nouvelle fonction de réplication réparatrice (conservatrice).

Un an plus tard, Rörsch confirmait la réalité d'un tel mécanisme in vivo, en démontrant que l'incubation d'un ADN lésé par les UV en présence d'un extrait enzymatique bactérien, conduisait effectivement à une récupération de l'activité biologique initiale de cet ADN.

De plus, depuis 1966, il est maintenant démontré que les phénomènes de réparation, étudiés surtout jusqu'ici en photobiologie UV (photoréparation, réparation à l'obscurité) existent en radiologie X et gamma (réparation enzymatique chimique).

La réparation enzymatique de l'ADN apparaît être un mécanisme physiologique normal d'autoprotection du patrimoine héréditaire de la cellule, la réparation des radiolésions ne constituant qu'un cas particulier.

99 % des mutations observées en UV dans une souche sensible d'E. coli sont éliminées dans la souche résistante par un mécanisme de répa-

ration enzymatique agissant par excision du segment d'ADN lésé et repolymérisation à partir du brin complémentaire d'ADN, resté intact.

Le déclenchement du mécanisme de réparation enzymatique obéit à une loi du tout ou rien, et procède par "échange standard" de segments entiers d'ADN.

Le mécanisme de réparation enzymatique apparaît se faire en cinq phases :

- 1) - identification de la région déformée de l'ADN,
- 2) - incision du segment d'hélice de la région endommagée par une endonucléase,
- 3) - excision par une exonucléase,
- 4) - repolymérisation restauratrice par une DNA polymérase nécessitant pour certaines souches bactériennes une source d'énergie (glucose, A.T.P.) et l'ion Mg^{++} comme catalyseur.
- 5) - fermeture covalente par la polynucléotide-ligase.

Ces différentes phases de réparation nécessitent l'intervention coordonnée de plusieurs enzymes. Des Bactéries aux Mammifères, il semble qu'un système enzymatique réparateur de l'ADN existe en permanence.

Bacq travaillant sur la cystéamine, protecteur chimique bien connu, émettait dernièrement l'hypothèse plus valable, selon laquelle les radioprotecteurs facilitent la restauration enzymatique de l'ADN.

On peut noter en France, en 1964, l'étude faite par C. Paoletti, J. P. Rebière, G. Aubin et M. Tubiana;

Des souris ayant ingéré un mélange 2 Amion-éthyl-isothiuronium-thiogel, puis irradiées (700 rad) et recevant après irradiation cinq injections intrapéritonéales quotidiennes de 1 mg de DNA de thymus de veau, récupèrent plus rapidement leurs poids et leur nombre initial de leucocytes que des animaux ayant subi le même traitement sans injection de DNA.

III - ETUDE DES ENZYMES DE REPARATION

L'étude a été faite principalement dans le domaine spectral étroit, situé dans l'ultra-violet, vis-à-vis duquel les systèmes biologiques apparaissent réagir de façon spécifique et bien adaptée.

Lorsque ces mêmes systèmes sont touchés par les rayonnements électromagnétiques beaucoup plus durs, tels les rayons X ou gamma, l'interprétation des faits observés semble devoir être au moins partiellement facilitée par la comparaison avec les phénomènes relatifs aux UV.

Nous avons vu que dans le cas de lésions UV et même X, un groupe distinct d'enzymes dont la synthèse est gouvernée par certains sites identifiés du génôme bactérien, assume une fonction complexe de réparation à l'obscurité de l'ADN à deux brins chez les microorganismes.

A première vue, il semble paradoxal que la structure qui contient le patrimoine héréditaire apparaisse intrinséquement aussi peu radiorésistante.

Selon Robev, la fonction de réplication de l'ADN apparaît même plus radiosensible que sa fonction de transcription en ARN messenger, celle-ci étant à son tour plus radiosensible que la fonction qu'assume ce même m-ARN pour gouverner la synthèse des protéines.

La décroissance de radiosensibilité de ces systèmes structurés essentiels de la cellule apparaît donc dans l'ordre inverse de la causalité génétique.

Ceci s'explique cependant, si l'on admet que l'ADN doit pouvoir être protégé par un processus très souple et susceptible d'adaptation à des agressions très diverses. Cette protection paraît bien se faire par le biais

d'une réparation de la structure radiosensible (ADN) par des structures radio-résistantes (enzymes), processus dont on conçoit en définitive qu'il puisse être beaucoup plus efficace qu'une autoréparation directe intrinsèque de la structure porteuse d'information.

Avant d'aborder schématiquement le mécanisme de protection, il faut rappeler que l'étude des radiations ionisantes sur les constituants des acides nucléiques a été surtout celles des complexes de bases pyrimidiques, qui s'avèrent plus radiosensibles et dont les mécanismes d'action sont mieux connus que les constituants puriques ou glucidiques.

De sorte que, il s'agira ici de réparation de l'ADN bactérien ou viral par excision de dimères de pyrimidine.

Dans le cas d'une irradiation unique aux UV, d'une population homogène de microorganismes, la radiorésistance apparaît essentiellement liée à la capacité de restauration d'un brin de l'hélice complémentaire comme modèle. Ceci s'observe également, lorsqu'un bactériophage préalablement irradié extracellulairement, voit son ADN restauré par priorité par le système de réparation de l'ADN de la bactérie-hôte qu'il infecte.

Remarquons que la cellule bactérienne dispose normalement d'un stock préexistant d'enzymes de restauration, capables de restaurer le génôme, y compris les sites génétiques connus comme gouvernant le renouvellement par biosynthèse de ce stock d'enzymes spécifiques (Szybalski).

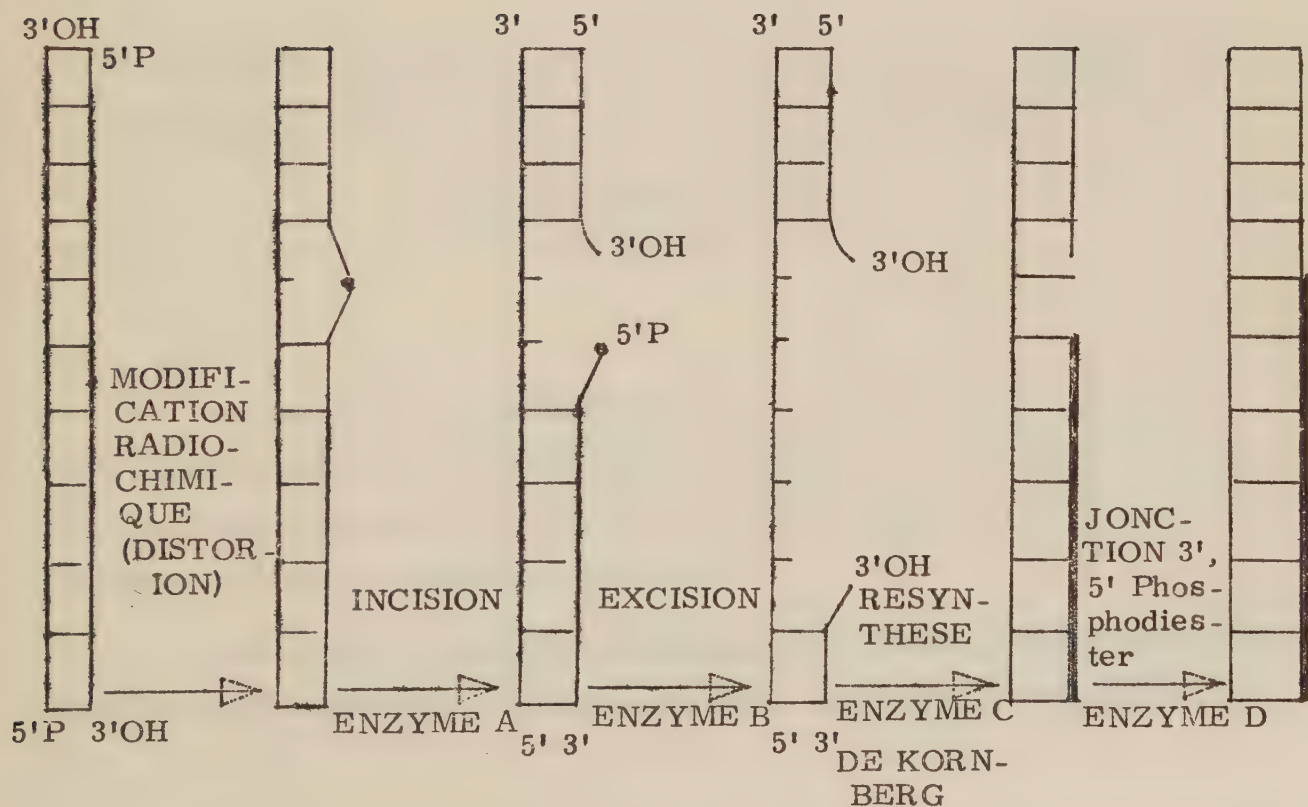
Dans ses grandes lignes, le mécanisme serait le suivant :

- 1) - on a une molécule intact d'ADN à double hélice.
- 2) - l'un des brins est interrompu, soit par action directe (rayonnement) soit par incision enzymatique.
- 3) - un court oligonucléotide contenant la lésion, ainsi que des nucléotides libres sont libérés dans le milieu par des nucléases dégradant le brin d'ADN interrompu sur une distance limitée.

4) - La double hélice d'ADN est reconstruite par l'insertion progressive de nucléotides complémentaires de ceux du brin resté intact qui sert alors de matrice à une polymérase de réparation.

5) - La dernière étape est constituée par la fermeture du squelette phosphodiester après insertion du dernier nucléotide. Cette soudure s'effectuant par l'intermédiaire d'une ligase.

- REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PROCESSUS DE REPARATION A L'OBSCURITE DE L'ADN AU NIVEAU MOLECULAIRE APERE PHOTO-EXPOSITION UV



(Endonucléase) (exonucléase) (Polymérase ?) (Polynucléotide Ligase)

On possède à l'heure actuelle de sérieuses évidences en faveur d'un pareil mécanisme. En particulier, l'existence d'une endonucléase et d'une exonucléase impliquées dans les deux premières étapes enzymatiques, a été démontrée par J.C. Kaplan, R.S. Kushner, et L. Grossman en 1969.

Ces auteurs ont réussi à purifier très extensivement deux nucléases catalysant l'excision de photoproduits d'ADN irradié à l'UV chez M. Lysodeikticus

La première de ces deux enzymes est une endonucléase (purifiée 5000 fois et libre d'activités nucléasiques contaminantes) réalisant une coupure sur le brin de l'ADN irradié à l'UV et inactif sur l'ADN, natif ou monocaténaire.

La seconde est une exonucléase active uniquement sur l'ADN irradié et prétraité par l'endonucléase.

IV - ACTION SPECIFIQUE DE RADIOMODIFICATEURS CHIMIQUES ET D'AGENTS MUTAGENES SUR LE SYSTEME DE REPARATION ENZYMATIQUE DE L'ADN.

Il résulte des considérations ci-dessus, que c'est en agissant à l'aide d'agents chimiques, aux niveaux enzymatique et chromosomique que l'on a les meilleures chances de pouvoir agir spécifiquement in vivo, sur la radiosensibilité des systèmes biologiques.

Nous citerons quelques résultats expérimentaux expliquant l'action spécifique de ces substances sur les systèmes cellulaires irradiés in vivo :

A - Sensibilisation chimique ou radiochimique de souches sauvages possédant une radorésistance naturelle spécifique.

On peut envisager une inhibition de certains caractères phénotypiques liés à la fonction de réparation en agissant, d'une part sur l'activité des enzymes de réparation (niveau enzymatique), d'autre part, sur la biosynthèse coordonnée de ces enzymes (niveau génétique).

1 - Action sur l'activité enzymatique :

Par exemple :

- au niveau du substrat irradié de ces enzymes, c'est-à-dire l'ADN modifié; on obtient une sensibilisation à l'UV du DNA de *E. Coli K 12 uvr⁺*, par incorporation de 5 bromo-uracile.

- au niveau de la membrane cytoplasmique, radiosensibilisation X de thymocytes de rat par addition d'iodocétamide dans le tampon d'irradiation.

2 - Action sur les sites génétiques gouvernant et réglant la synthèse des enzymes de réparation.

- au niveau des gènes de structure, par utilisation d'agents mutagènes susceptibles de former des mutants stables, moins radorésistants que la souche sauvage d'origine.

B - Protection chimique ou radiochimique de souches sauvages possédant déjà une radorésistance naturelle spécifique.

- Action sur l'activité enzymatique :

Par exemple :

- au niveau du substrat irradié par combinaison avec un radio-protecteur susceptible d'induire des lésions monocaténares d'un ADN bifi-liaire, facilitant ainsi la phase d'excision ou le repérage topologique des sites d'ADN à exciser.

- on peut agir également par action sur le métabolisme cellulaire; par exemple, en retardant la réplication, laquelle est en compétition avec la réparation immédiatement après irradiation, ou en stimulant la possibilité ultérieure de réparation par mise en culture préalable dans un milieu de croissance riche en glucose.

C - Acquisition héréditaire d'une radiorésistance supplémentaire par induction chimique de mutants plus radiorésistants que la souche sauvage d'origine :

Par exemple, l'agent désaminant : HNO_2 et alkylant : $\text{S}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl})_2$ sont effectivement capable d'induire des mutants "plus", radiorésistants vis-à-vis des rayonnements ionisants, dans une souche haploïde de "*S. cerevisiae*".

D - Conclusion :

Il apparaît prématuré de discuter du rôle éventuel qu'ont pu jouer ces substances protectrices ou sensibilisatrices sur la survie évolutive naturelle des systèmes biologiques sous rayonnement.

Que ces substances soient susceptibles de promouvoir ou d'inhiber un système actif de réparation enzymatique de l'ADN nous paraît constituer déjà un fait acquis que des expérimentations de plus en plus nombreuses viennent chaque jour confirmer.

L'utilisation judicieuse de certaines de ces substances capables d'agir sélectivement sur tel ou tel système de réparation enzymatique de l'ADN, lié à la nature des radiolésions, donne dès à présent la possibilité d'étudier in vivo, au laboratoire, la survie évolutive d'un système biologique judicieusement choisi.

DEUXIEME PARTIE

"La réparation de l'ADN dans la maladie du Xeroderma Pigmentosum"

EXEMPLE D'UNE MALADIE LIEE A UNE CARENCE DU SYSTEME DE REPARATION DE L'ADN : LE XERODERMA PIGMENTOSUM

1 - Comment se présente la maladie :

Le Xeroderma Pigmentosum est une dystrophie rare, autosomiale, récessive, souvent familiale, débutant au cours de la première enfance, souvent dès la première année. Sur les régions découvertes, au printemps ou en été, après un érythème solaire, apparaissent des taches brunes, semblables aux éphélides ou au lentigo. Ces taches s'étendent, et aux étés suivants, de nouvelles lésions érythémateuses et pigmentées surviennent. A ces taches roses et brunes, s'ajoutent bientôt des taches blanches atrophiques, des télangiectasies et angiomes stellaires.

Le visage est entièrement bariolé par tous ces éléments qui arrivent à ne plus laisser la peau saine. Les téguments atrophiés se rétractent (ectropion, atrésie buccale). Les autres parties découvertes ont des lésions moins accusées.

Au bout de quelques années, apparaissent sur ces lésions, des excroissances verruqueuses, des bourgeons mollasses, des ulcérations. Ce sont des épithéliomas baso, ou spino-cellulaires, habituellement rapidement mortels. L'évolution se prolonge, dans un tiers des cas seulement, après la quinzième année.

L'oligophrénie serait fréquente, des troubles métaboliques à type d'acidoacidurie, d'hypercréatinurie et porphyrinurie sont souvent associés. Seules les atteintes des mâles peuvent être expliquées partiellement par une hérédité au niveau des chromosomes sexuels (sex linked). La maladie se voit surtout après mariages consanguins, et les deux sexes sont également affectés.

Le rôle de la lumière est incontestable. Le traitement palliatif consistera à protéger la peau contre les rayons lumineux : pâtes et pommades aux sels de quinine, voiles,.... La vitamine PP et la nivaquine pourront être essayées. La cortisone générale et locale a été préconisée. Toute verrucosité, tout bourrelet sera détruit par la neige carbonique, par la chirurgie, par l'électrocoagulation ou la radiothérapie de contact.

2 - Résultats de travaux récents :

A - J.E. Cleaver des Laboratoires de Radiobiologie de l'Université de Californie de San-Francisco, a particulièrement étudié les fibroblastes homozygotes et hétérozygotes de malades présentant le XP, en comparaison avec les fibroblastes de sujets normaux.

Il déduit de ses expériences que :

- les fibroblastes homozygotes de XP ne peuvent réparer les dommages causés aux bases de l'ADN, mais peuvent réparer les dommages qui entraînent les ruptures de brin. En effet, la réparation des dommages causés aux bases de l'ADN exige une scission enzymatique, une excision et la réplication de réparation. Alors que la réparation de la cassure de brin n'exige pas ce premier temps enzymatique.

- chez les fibroblastes hétérozygotes, la réparation des dommages causés aux bases de l'ADN s'effectue normalement.

Les méthodes d'études de J.E. Cleaver sont les suivantes: cet auteur a pratiqué des biopsies cutanées prélevées sur des patients présentant le XP avec complications neurologiques (syndrome de De Sanctis-Cacchione) sur des patients présentant uniquement l'affection avec des troubles cutanés, et enfin sur des sujets normaux.

Des cultures de fibroblastes sont développées à partir de ces biopsies :

- I - en utilisant le milieu de Mc Coy's avec 30 % de sérum foetal de veau et cultivées dans des boîtes de Pétri à 37° C.

II - Les cultures étaient irradiées à la lumière ultra violette (de longueur d'onde prédominante aux alentours de 2537 Angstroms) et à un débit de $7 \text{ erg/mm}^2/\text{sec.}$, la source de rayons X dont on disposait était un générateur de 300 KV, un Maxitron.

III - Pour marquer les cellules, le milieu est remplacé avec un milieu Mc Coy's fraîchement préparé et qui contient du $^3\text{HTdR}$ (10 micro Ci/ml., 17 Ci/mole). Après incubation, le milieu radioactif est changé et les cellules lavées avec 0,15 M. de citrate de sodium.

IV - Les cellules sont traitées pendant cinq minutes avec 0,25 % de trypsine et le reste des cellules en suspension immédiatement centrifugé.

Le culot est mélangé dans 0,7 % de citrate de sodium pendant 5 minutes à la température de la chambre et centrifugé; les cellules sont fixées avec de l'acide acétique Ethanol (1 : 3) pendant 10 minutes, les suspensions distillées dans des bacs humides puis passées à air sec.

Les films sont plongés dans une émulsion Kodak NTB et développés après une à huit semaines d'exposition. L'exposition est réglée de façon que le compte de la moyenne de nombre de grains contenus dans les noyaux soit entre 20 et 50 (avec une erreur de 15 % environ admise).

Après irradiation ultra-violette, la plupart des cellules incorporent l' ^3H Thymidine dans l'ADN, durant toutes les étapes du cycle de la cellule, et non uniquement durant la phase S (phase physiologique de la synthèse de l'ADN).

Ce phénomène, la "synthèse non programmée" représente la répliation par réparation.

Dans les fibroblastes homozygotes de XP, cette synthèse non programmée est absente.

Cette dernière après substitution de BrUdR dans l'ADN, s'effectue normalement pour les fibroblastes XP homozygotes.

BIOCHEMISTRY : J.E. CLEAVER

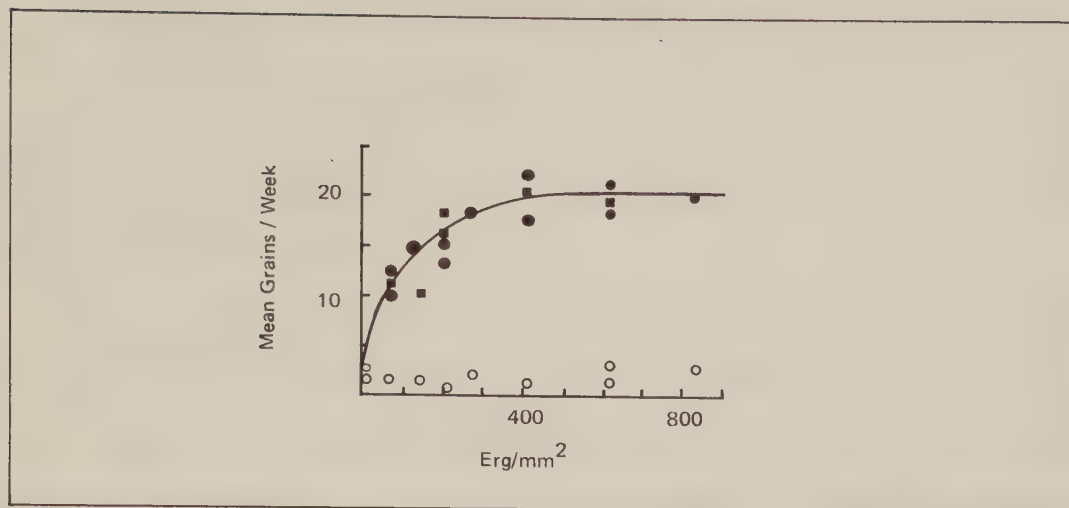


Fig. 3 - Average grain number per week exposure over lightly labeled cells in autoradiographs of human fibroblasts irradiated with UV light and labeled for 2 hr with H^3 TdR ●, Normal fibroblasts ■, heterozygous xeroderma pigmentosum fibroblasts ; ○, homozygous xeroderma pigmentosum fibroblasts.

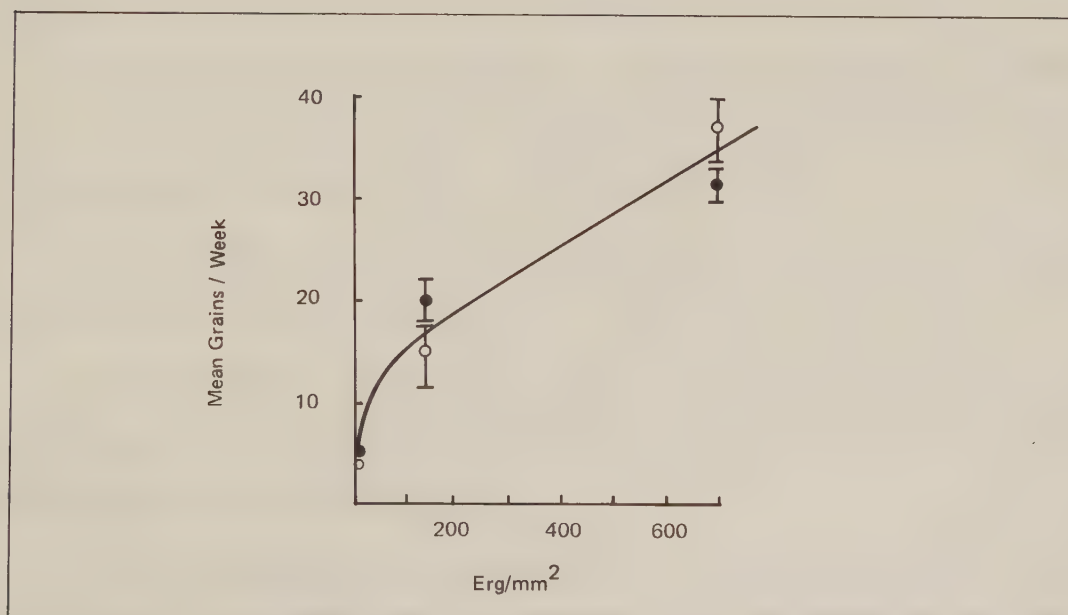


Fig. 5 - Average grain numbers over lightly labeled cells in autoradiographs of human fibroblasts grown for 25 hr in BrUdR, irradiated with UV light, and labeled with H^3 TdR for 2 hr. ● , Normal fibroblasts; ○, homozygous xeroderma pigmentosum fibroblasts. Bars denote standard errors of mean.

Après irradiation aux rayons X, en utilisant le même protocole, la "synthèse non programmée" s'effectue normalement pour les cellules XP et saines.

B - L'équipe d'Epstein du Département de Dermatologie de San-Francisco:

a démontré in vivo le défaut de synthèse de l'ADN dans la peau de patients présentant le Xeroderma Pigmentosum. Ces auteurs étudient des fibroblastes de patients, présentant la maladie simple, et l'affection cutanée avec complications neurologiques.

Ils irradient la peau de chaque sujet aux rayons ultra-violets et injectent du H^3 TdR dans le derme de la peau irradiée et non irradiée.

Après traitement spécial, ils constatent que pour les sujets normaux après irradiation, l'autoradiographie montre un marquage disparate des cellules (qui représente la synthèse non programmée de l'ADN) tandis que pour les sujets atteints du syndrome de De Sanctis-Cacchione, les cellules marquées restent groupées.

De plus chez les sujets présentant uniquement l'affection cutanée un faible éparpillement des cellules marquées était noté.

C - D. Bootsma, M.P. Mulder, F. Pot et J.A. Cohen ont étudié les

différents niveaux de la réplication de l'ADN hérités dans les diverses souches de cellules XP, après exposition UV.

Les cultures de fibroblastes provenaient de patients présentant cliniquement huit degrés différents de la maladie.

La réparation (réplication), après exposition des cellules à différentes doses d'irradiation UV, était analysée en utilisant le marquage à l' H^3 Thymidine et l'autoradiographie.

Dans ces préparations deux lignes de cellules marquées pouvaient être reconnues : les cellules à noyaux fortement marqués et les cellules à noyaux faiblement marqués. Les premières étaient dans la phase S (plus

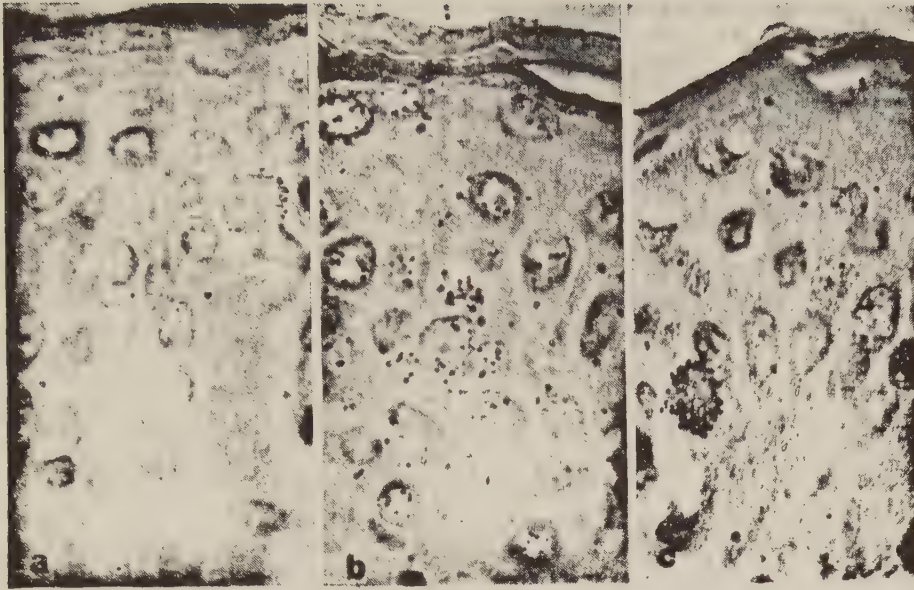


Fig. 1 (a) Normal human epidermis not subjected to ultraviolet irradiation. The autoradiograph shows the dense labeling of one basal cell in the premitotic DNA synthesis phase of the cell cycle. (b) Normal human epidermis subjected to ultraviolet irradiation. The autoradiograph shows sparse labeling of cells throughout the epidermis. (c) Epidermis of a patient with XP subjected to ultraviolet irradiation. Autoradiograph shows one densely labeled basal cell, but no sparse labeling.

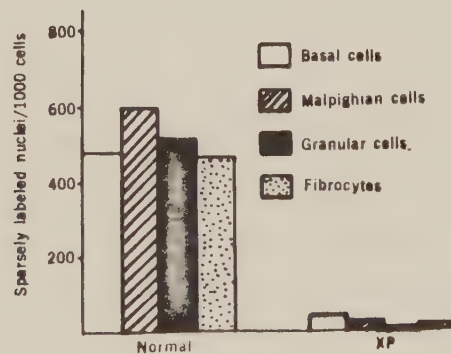


Fig. 2-The mean values for sparsely labeled nuclei (3 to 15 silver grains) in normal skin subjected to ultraviolet irradiation (eight subjects) are compared with mean values for sparsely labeled nuclei in skin of XP patients subjected to ultraviolet irradiation (three patients). The difference between the counts in each cell type of the normal skin and skin of patients with XP revealed $p < 0.01$ with the t-test for comparison of means and standard deviations. The subjects were injected with (^3H) TdR 15 minutes after ultraviolet irradiation.

longue), les dernières dans la phase G_1 ou G_2 , durant l'exposition à l' H^3 Thymidine.

La figure 1A montre deux cellules en phase S dans une population de cellules témoins (MM) non irradiées; les cellules en phase G_1 et G_2 ne sont pas marquées.

Après avoir reçu 100 erg/mm², ces cellules en phase G_1 et G_2 étaient légèrement marquées (fig. 1B).

Avec de plus fortes doses (500 erg/mm² fig. 1C, et 1000 erg/mm² fig. 1D, le nombre de grains sur les cellules en phase G_1 et G_2 augmentait tandis que les cellules en phase S devenaient moins fortement marquées. La basse incorporation de H^3 Thymidine dans les cellules en phase G_1 et G_2 était le résultat de la réplication dans la réparation (synthèse de DNA non programmée décrite en premier par Rasmussen et Painter).

Le haut résultat d'incorporation de H^3 Thymidine dans les autres cellules était le résultat de duplication de l'ADN durant la phase S.

La phase S est partiellement inhibée par l'exposition UV; ceci gêne la distinction entre phase S de réplication et la réplication réparation dans les cellules qui reçoivent de fortes doses d'UV.

Dans les souches XP₁, XP₂, XP₃, on peut noter que la réparation de la synthèse de l'ADN peut être accomplie. Ces différences pour les souches dans le résultat de la réplication réparation était étudiées en comptant le nombre de grains sur les cellules faiblement marquées, qui étaient en phase G_1 et G_2 durant leur croissance avec incorporation de H^3 Thymidine.

Avec les cellules provenant de patients XP₁, on obtenait un nombre de grains qui était significativement différent de celui observé dans les cellules de contrôle irradiées avec 100 erg/mm² (figure 1).

Dans les deux expériences (figures 2A et 2B), les cellules XP montraient à peu près 70 % de l'activité observée dans les cellules de contrôle

DNA Repair Replication in xeroderma pigmentosum cell strains

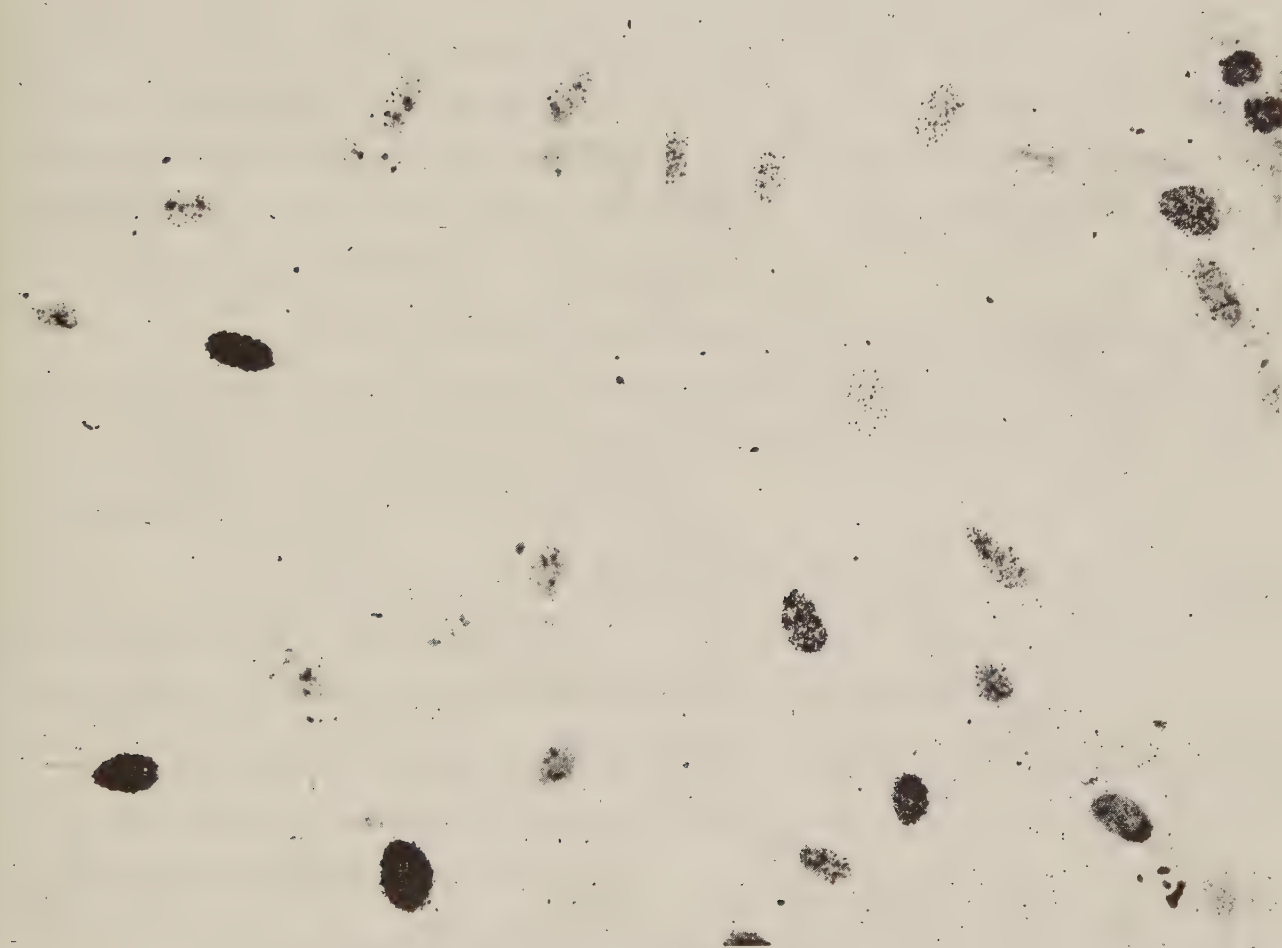


Fig.1 - Autoradiographs of normal human fibroblasts in a culture (MM strain) labeled for 3 h in (^3H) thymidine. (A) No UV exposure, heavily labeled cells in S phase and unlabeled cells in G_1 and G_2 phase. (B) Labeling after 100 erg/mm^2 UV ; heavily labeled cells in S phase ; repair DNA synthesis in cells in G_1 and G_2 phase. (C) Labeling after 500 erg/mm^2 UV. (D) Labeling after 1000 erg/mm^2 UV.

(DB et MM). Les souches de cellules provenant de deux biopsies de patientx XP (un cas modérément sévère de XP) montraient à peu près 50 % de l'activité observée dans les cellules témoins après une dose de 100 erg/mm² d'exposition UV.

Avec de plus fortes doses ces différences entre les cellules XP et témoins étaient moins évidentes, particulièrement après un long temps d'exposition autoradiographique (comparer fig. 2A avec la fig. 2B). Cependant les souches de cellules provenant de deux cas sévères (XP₄ et XP₉) ne montraient pas de réparation de la synthèse, après un court temps d'exposition autoradiographique, mais après un mois d'exposition, un léger marquage était observé (10 à 20 % par rapport aux témoins).

Les cellules provenant de différents patients et montrant des niveaux identiques d'activité réparatrice réduite étaient celles provenant de souches très voisines : les souches XP₂ et XP₃ (cousins), et les souches XP₅, XP₆ et XP₇ (trois enfants d'un même mariage).

Ceci suggère que le niveau de la réplication est déterminé génétiquement. Il est clair qu'une corrélation inverse existe entre le niveau de la réparation et la gravité des symptômes cliniques de la maladie.

Il est fort probable que les cellules XP soient défectueuses dans l'une des premières étapes du processus de réparation, peut être au niveau de l'excision des dimères de Thymine.

D - W.J. Kleijer, P.H.M. Lohman, M.P. Mulder et D. Bootsma ont étudié la réparation du dommage causé par les rayons X à l'ADN de cellules cultivées à partir de patients XP. La réplication par réparation et la rejonction de la rupture d'un seul brin après irradiation X, dans les fibroblastes de peau humaine provenant de donneurs normaux et de plusieurs malades XP ont été comparées.

Les résultats montrent que les cellules XP peuvent accomplir ces deux étapes de la réparation après irradiation X, ceci corrobore les observations publiées par Cleaver.

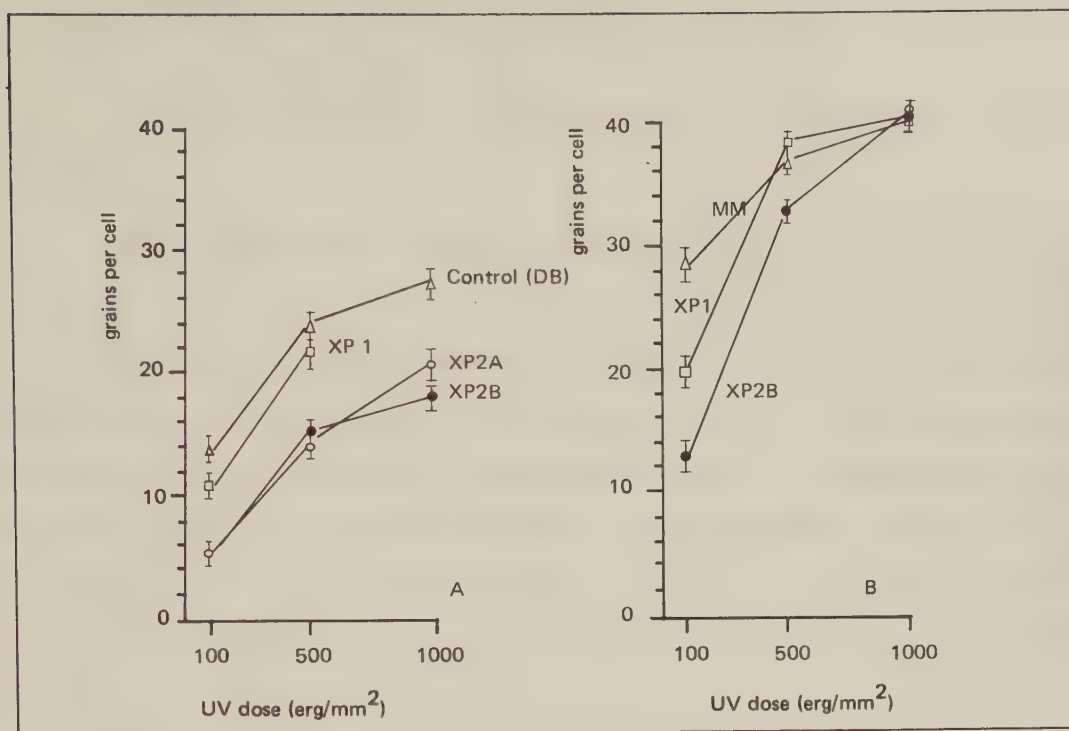


Fig. 2. Repair-DNA synthesis measured as the average number of grains over lightly labeled cells in G_1 and G_2 phase after UV exposure of normal human fibroblasts (DB and MM), cells from a mild case of xeroderma pigmentosum (XP1) and from a moderately severe case of xeroderma pigmentosum (two different strains, XP2A and XP2B). The error flags on the experimental points are the standard errors of the mean. (A) Exposure time, 3 days. (B) Exposure time, 7 days.

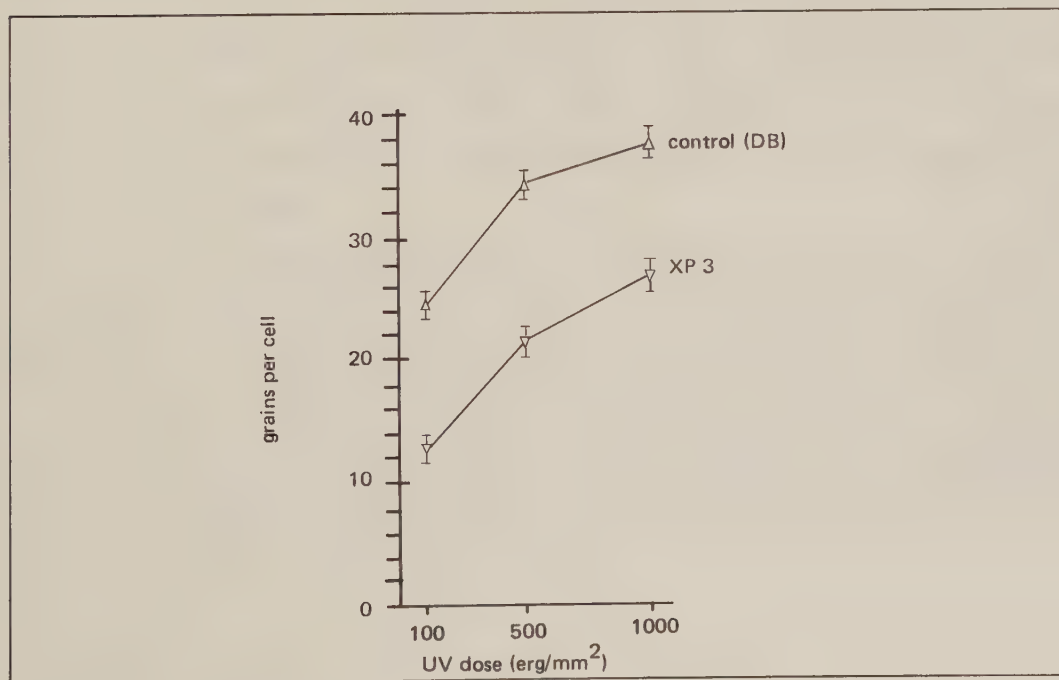


Fig. 3. Repair-DNA synthesis after UV exposure of normal human fibroblasts (DB) and cells from a light to moderately severe case of xeroderma (XP3), second cousin of XP2 (Fig. 2).

Les cellules utilisées dans ces expériences étaient des fibroblastes XP₂, XP₄, XP₉, XP₄ SV₄₀, et deux souches témoins R et LN.

Après cultures sur milieux enrichis, les cellules sont irradiées aux rayons X.

Pour étudier la réplication, on utilise la technique autoradiographique (il s'agit d'une incorporation de petites quantités de ³H Thymidine au niveau de l'ADN lésé, qui se désintègre et sont impressionnées. Sur la photographie, on fait le compte du nombre de grains d'argent contenus dans les noyaux des cellules). Cette expérience montre que toutes les cellules sont radioactives; les cellules en phase S pouvaient être reconnues par leur fort marquage résultant de la réplication continue, semi-conservatrice de l'ADN, et les cellules en phase G₁ et G₂, résultant de la réparation réplication étaient faiblement marquées.

La rejonction de cassure est analysée par les gradients de sucrose alcalin qui consiste en l'étude des différents diagrammes de sédimentation.

L'étude des gradients de sucrose alcalin permet de localiser les brins cassés qui, étant plus légers, restent à la partie supérieure, et les ADN entiers ou réparés, qui étant plus lourds, descendent au fond du tube.

La technique est la suivante : deux jours après l'ensemencement, le milieu est remplacé par un milieu frais contenant de l'³H Thymidine (2,5 micro Ci/ml., 2 Ci/mole) et on fait pousser les cultures pendant 18 heures à 37°, puis on les irradie.

Après des intervalles variables d'irradiation (de 0 à 90 minutes), on place les cellules en suspension dans le milieu et on les refroidit et centrifuge à 300 g. pendant 10 minutes à 0-3°, et puis on lave le culot dans 0,15 M. de NaCl. Finalement, on obtient une suspension de $2 \cdot 10^5$ cellules/ml. dans 0,15 M. NaCl froid. On prépare les gradients de sucrose dans des tubes de polypropylène placés dans une cuve à centrifuge.

Au sommet de chaque gradient sont ajoutés successivement : 1,5 ml 0,5 M de NaOH - 0,5 ml d'une solution aqueuse contenant 6 % de butane 2-ol (par volume) et 2 % de 4 aminoacide salicylique et 2 % d'acide triisopropyl-naphtalènesulfonique et 0,5 ml de la suspension de cellules (10^5 cellules). Les tubes sont centrifugés à 22.500 tours/minute pendant 3 à 5 heures à 20°. Les gradients sont fractionnés et on mesure la radioactivité (nombre de coups minute) déterminée sur chaque fraction. (voir schéma page 25).

- EXEMPLE SUR XP₂

Sur le schéma ci-après, l'induction des cassures est indiquée par le déplacement de la radioactivité vers les fractions des nombres les plus bas correspondant aux plus faibles poids moléculaires. Une heure après irradiation, la plus grosse partie de la masse moléculaire de l'ADN se trouve du côté des fractions de nombres les plus grands, correspondant aux poids moléculaires plus élevés et de ce fait indique la réparation de la cassure. Ainsi, le nombre de cassures peut être évalué.

Bien qu'il y ait une certaine variation dans le pourcentage des rejonctions, des différences non significatives existent dans la capacité de rejonction entre les cellules Xp et les cellules témoins.

L'étude autoradiographique a montré que les cellules de six patients souffrant à différents degrés de Xp et de quatre sujets normaux, présentaient les mêmes niveaux de réplication après irradiation X.

L'étude du gradient de sucrose prouve que les cellules de différents patients présentent le XP sont aptes à rescuer les cassures d'un seul brin dans l'ADN, occasionnées par irradiation X au même taux et au même niveau que les fibroblastes humains normaux.

Ces résultats sont en contradiction avec les notions précédentes qui montraient une décroissance dans la réplication pour chacune des cellules XP suivant l'irradiation UV.

W.J. KLEIJER, P. H. M. LOHMAN, M. P. MULDER, D. BOOTSMA

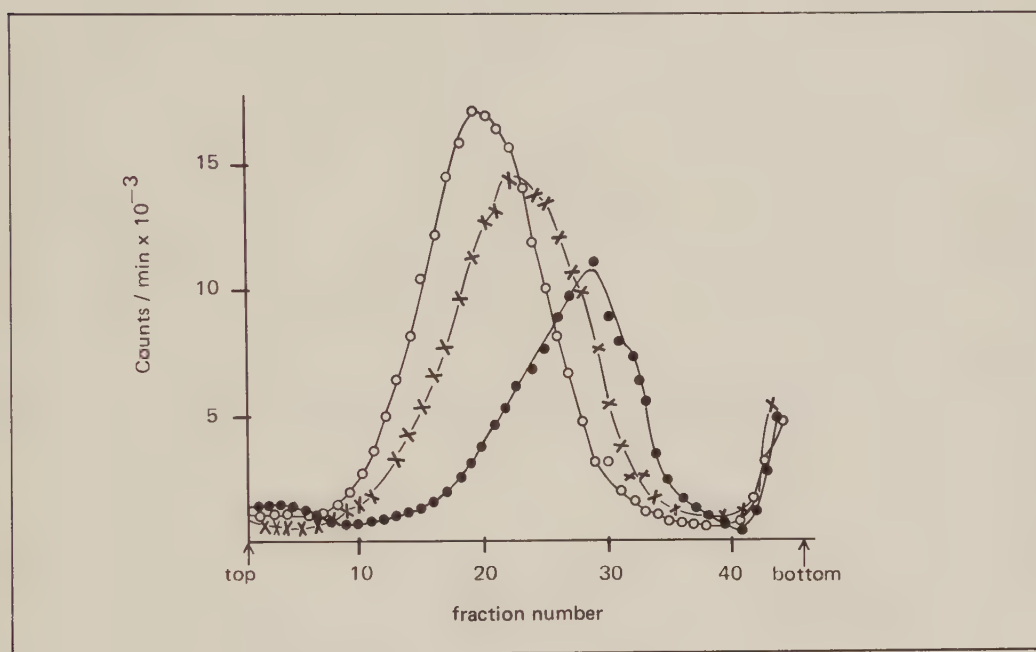


Fig. 2 - Sedimentation patterns in alkaline sucrose gradients of DNA from xeroderma pigmentosum (XP₂) cells. Urirradiated (●) ; 20 krad (O) ; 20 krad incubated at 37° for 1 h (X).

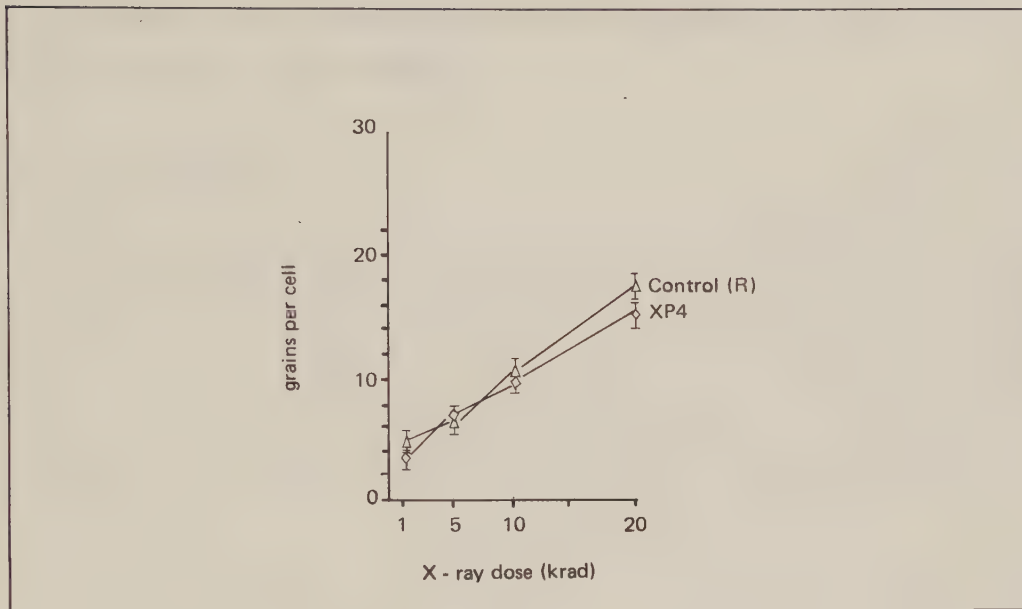


Fig. 1. Average grain number over lightly labeled cells in xeroderma pigmentosum and control cultures after X-irradiation. Autoradiographic exposure time, 21 days.

DNA REPAIR REPLICATION IN XERODERMA PIGMENTOSUM CELL STRAINS

TABLE I

ORIGIN OF CELL STRAINS

Strain	Sex	Age	Clinical symptoms
DB	male	33	normal
MM	male	32	normal
R	female ^a	49	"normal"
J.N	male	8	Lesch-Nyhan syndrome
Atel	male	8	ataxia telangiectasia
XP ₁	male	48	very light degree of xeroderma pigmentosum
XP ₂ ^b	female	34	"moderate" degree of xeroderma pigmentosum
XP ₃ ^b	female	29	light-moderate degree of xeroderma pigmentosum
XP ₄	female	16	severe case of xeroderma pigmentosum
XP ₅ ^c	female	25	light-moderate degree of xeroderma pigmentosum
XP ₆ ^c	female	18	light degree of xeroderma pigmentosum
XP ₇ ^c	female	18	light degree of xeroderma pigmentosum
XP ₈ ^d	female	50	normal (heterozygous)
XP ₉	male	9	severe case of xeroderma pigmentosum
XP ₁₀ ^e	female	50	normal (heterozygous)

^a This patient had a male phenotype but a normal female chromosome complement.

^b XP₂ and XP₃ are second cousins.

^c XP₅, 6 and 7 are members of one family, XP₆ and XP₇ are one-egg twins.

^d XP₈ is the mother of XP₅, 6 and 7.

^e XP₁₀ is the mother of XP₉.

Actuellement on peut conclure que les six souches différentes de cellules XP pourraient être défectueuses dans l'excision de dimères de pyrimidine, ou même dans la première étape du processus, l'incision proche d'un dimère par une endonucléase.

E - CONCLUSION

Les résultats obtenus par ces travaux n'expliquent pas tout, et ce qui est resté obscur ou en contradiction peut provenir de mutations intervenant dans différents gènes (gène contrôlant les enzymes intervenant dans les premières étapes, en gènes régulateurs) ou de différentes mutations intervenant dans un seul gène contrôlant le même enzyme dans tous les cas.

oOo

- RESUME

Nous avons montré dans une première partie qu'il existait un système enzymatique de réparation de l'ADN aux dommages causés par les radiations, et dont le processus serait le suivant :

- 1 - INCISION : après rayonnement, l'un des brins d'ADN est coupé par l'intermédiaire d'une endonucléase.
- 2 - EXCISION : un court oligonucléotide contenant la lésion, ainsi que des nucléotides simples sont libérés dans le milieu par des nucléases dégradant le brin interrompu sur une distance limitée (exonucléase).
- 3 - REPLICATION : la double hélice d'ADN est reconstruite par l'insertion progressive de nucléotides complémentaires de ceux du brin resté intact, qui sert alors de matrice à une polymérase de réparation.
- 4 - REJONCTION : la dernière étape est constituée par la fermeture du squelette phosphodiester, après insertion du dernier nucléotide. Cette soudure s'effectuant par l'intermédiaire d'une ligase.

Dans la seconde partie, qui nous intéresse particulièrement ici, nous avons passé en revue différents travaux effectués sur les mécanismes biochimiques et génétiques dans des cellules de patients atteints de Xeroderma Pigmentosum.

Ces travaux effectués en utilisant l'autoradiographie et l'étude en gradients de sucrose alcalin du DNA des cellules marquées par un traceur radioactif ont apporté la preuve que :

- la réparation de la cassure du brin pouvait être effectuée par les fibroblastes homozygotes de Xp, parce que celles-ci n'exige pas la première étape enzymatique, c'est-à-dire la scission enzymatique, pour s'effectuer.

- dans la peau de patients présentant différents degrés de la maladie, on a pu montrer que la synthèse non programmée représentée dans l'autoradiographie par un marquage disparate des cellules après irradiation UV, était synonyme de réplication et s'effectuait d'autant moins que la maladie était plus grave.

- après irradiation X, on avait montré par l'étude des gradients de sucrose alcalin, que les cellules de différents patients XP, sont aptes à ressouder les cassures d'un seul brin d'ADN avec la même faculté que les fibroblastes humains témoins.

Ces résultats étaient donc en contradiction avec la décroissance dans la réplication pour chacune des cellules XP sous irradiation UV.

- enfin, il semblait que la carence enzymatique du XP intervenait dans l'une des premières étapes de la réparation, soit l'incision, soit l'excision. Actuellement, on pencherait plus sur une carence enzymatique intervenant sur l'incision.

L'équipe REGAN, SETLOW, CARRIER et LEA a représenté le Xeroderma Pigmentosum comme l'analogie humaine des mutants bactériens sensibles aux ultra-violets.

Les défauts de la réparation résultent d'un degré de mutation croissant, occasionné par l'irradiation UV dans la bactérie; une mutation similaire intervenant sur la peau des patients XP après exposition au soleil, pourrait expliquer le potentiel de carcinogénèse de la maladie.

Les difficultés à surmonter dans le domaine de la thérapeutique expérimentale demeurent considérables.

C O N C L U S I O N

A..., 7 ans, fillette d'origine nord-africaine, présente un xeroderma pigmentosum sans dégénérescence épithéliomateuse actuellement.

Au cuir chevelu, on note des zones d'alopécie cicatricielle. Il existe une kératite avec ectropion, une atrésie buccale avec atteinte de la langue. L'intelligence paraît normale.

Aïcha est la 4e d'une fratrie de 7 enfants. Les 5 autres enfants vivants sont indemnes de lésions cutanées. Une soeur est décédée à l'âge de 2 ans en Algérie d'une maladie non précisée. Elle avait semble-t-il des lésions cutanées du même type que celles d'Aïcha. Les parents sont également indemnes. Il est à noter que l'arrière-grand-mère paternelle et la grand-mère maternelle de notre malade étaient cousines germaines.

1 - D... Lucette née le 8.3.1951

Apparition rapide de nombreuses éphélides sur les régions découvertes.

Premiers épithéliomas à l'âge de 3 ans.

Actuellement en pleine évolution épithéliomateuse.

2 - D... Monique née le 10.5.1956

Nombreuses éphélides depuis l'âge de 10 mois.

Epithélioma de la paupière inférieure gauche depuis 2 mois.

Pas de lésion sur les régions découvertes.

Pas d'antécédents collatéraux immédiats, mais une parente très éloignée présenterait également un Xéroderma pigmentosum.

Pas de consanguinité entre les parents.

Cas I. - Malade K., B.K., âgé de 56 ans, agriculteur.

Antécédents familiaux : Le père du malade est décédé en 1946, à l'âge de 68 ans, d'une tumeur maligne localisée sur la région temporale et l'oreille gauche.

Etat actuel : A l'âge de vingt ans le malade a pour la première fois remarqué sur le lobe de l'oreille gauche des taches pigmentaires disséminées et de larges télangiectasies, qui s'accroissaient durant l'été. A l'âge de 56 ans, le malade s'est adressé à un dermatologue car sur ces altérations, des érosions se creusaient progressivement, régressaient lentement, et récidivaient souvent après la cicatrisation.

En 1952, le malade vient à la consultation de la polyclinique "Sainte-Irène". Il présentait une profonde ulcération autour de l'oreille gauche. Les bords de cette ulcération étaient tuméfiés, irrités et suppuraient. Sur l'oreille, ainsi que sur la région temporale gauche, des éphélides d'un brun foncé apparaissaient et la peau était amincie et luisante. D'après le diagnostic du dermatologue il s'agissait d'un xeroderma pigmentosum.

L'examen anatomo-pathologique des fragments prélevés a mis en évidence un épithélioma baso-cellulaire.

Le malade a subi une radiothérapie dont les résultats ont été satisfaisants. Cependant deux ans après le traitement le malade a manifesté sur la même région faciale une ulcération et s'est de nouveau exposé à la radiothérapie.

Depuis 15 ans, il est en bonne santé.

Cas II. - Malade Ch. B.K., âgé de 55 ans, cultivateur.

Antécédents familiaux : Les mêmes que celui du malade précédent étant donné que ce sont là deux frères ayant les mêmes parents.

Etat actuel : Le malade, il y a deux ans, a constaté deux ou trois petites verrues situées sur la tempe gauche, ce qui l'a poussé à s'adresser à un dermatologue. Il s'agissait de naevi verruqueux qui, se développant progressivement, avaient atteint le volume d'une amande pour le premier et d'un pois pour le second.

En 1956, le malade s'est présenté à la consultation de la polyclinique "Sainte-Irène" ; il avait les mêmes verrues décrites ci-dessus, qui ont été prélevées pour l'examen anatomo-pathologique

qui a montré un épithélioma spino-cellulaire malpighien. Il est à signaler que le dermatologue avait posé le diagnostic d'un xéroderma pigmentosum puisque sur la joue gauche du malade se trouvaient de nombreuses éphélides d'un brun obscur et des télangiectasies.

Le malade a été soumis à la radiothérapie et depuis 11 ans l'état de sa santé est excellent.

Cas III. - Malade N. B.K., âgé de 52 ans, chauffeur. Il est frère des deux autres malades.

Etat actuel : Dès l'enfance, le malade présentait sur le visage et les mains de nombreuses éphélides et il manifestait une hypersensibilité aux rayons lumineux. Il y a un, il a constaté sur le front et sur les tempes une verrue du volume d'un pois-chiche, dure et indolore. La peau environnante était par ailleurs amincie sur bien des régions et des télangiectasies y étaient nées. Il s'agissait d'un xéroderma pigmentosum.

L'examen anatomo-pathologique révéla un cancer cutané malpighien. Le malade est exposé à l'action des rayons X et depuis 6 ans il se porte bien.

Il est deux faits certains :

- 1 - La tendance familiale et héréditaire de la maladie (les quelques observations recueillies dans ce manuscrit le prouvent bien).
- 2 - La tendance cancérigène de la maladie (étude basée sur 25 observations publiées par la Société de Dermatologie et de Syphiligraphie, 21 dégénérescences malignes survenues, et sur de nombreux cas traités, dont trois cas personnels, traités par électrocoagulation et radiothérapie de contact aux Hôpitaux SAINT-LOUIS et TENON) pourra un jour être combattue par l'utilisation d'enzymes adéquats intervenant dans la facilitation de la réparation génômique ; sans oublier les moyens de lutte actuels : la cortisone, les vitamines, la destruction des tumeurs au fur et à mesure qu'elles apparaissent et enfin la prophylaxie, qui repose sur l'eugénique : "tout homme apparemment normal mais porteur d'un gène pathologique ne transmettra pas l'affection. Au contraire, toute femme apparemment saine peut la transmettre".

Cependant, il faut ajouter que la réparation défectueuse de la synthèse de l'ADN après irradiation n'est pas l'essentiel pour la carcinogénèse cutanée : en effet, les cellules cancéreuses, les cellules Hela qui peuvent accomplir normalement la réparation le prouvent bien ; de même que les cellules provenant de malades présentant l'ataxie télangiectasique qui ne peuvent pas accomplir normalement la réparation de l'ADN ne sont pas cancérigènes.

Une nouvelle optique domine donc actuellement en Radiobiologie, basée non plus sur la nature du rayonnement, mais sur celle des modifications apportées au génôme et à l'organisation de la cellule.

Auparavant, les recherches étaient axées sur les modifications du métabolisme normal par les rayonnements ; l'attitude actuelle est que les rayonnements font tout à fait partie de la vie biologique.

Vu, le Président de Thèse :

Vu, le Doyen de la Faculté

Professeur TUBIANA

Professeur MONSAINGEON

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

- P. L. BOQUET

Thèse sur les mécanismes de réparation des lésions inactivantes de l'ADN 1967

- D. BOOTSMA, M. P. MULDER, F. POT et J. A. COHEN

Different inherited levels of DNA repair replication in Xeroderma Pigmentosum cell strains after exposure to ultraviolet irradiation. Mutation Res. 9, 507-516, 1970

- J. E. CLEAVER

Nature 218, 652, 1968

- J. E. CLEAVER

Xeroderma Pigmentosum : "a human disease in which an initial stage of DNA repair is defective".
P.N.A.S. 63, 428-435, 1969

- EPSTEIN et coll.

Science, 168, 1477, 1970

- P. HOWARD-FLANDERS

Genetics, 53, 11119, 1966

- J. C. KAPLAN, S. R. KUSHNER, L. GROSSMAN :

"Enzymatic repair of DNA purification of two enzymes involved in the excision of thymine dimers from ultraviolet irradiated DNA".
Proc. N. A. S., 63, 144-151, 1969

- W. J. KLEIJER, P. H. M. LOHMAN, M. P. MULDER et D. BOOTSMA

"Repair of X-rays damage in DNA of cultivated cells from patients heaving Xeroderma Pigmentosum".
Mutation Res. 9, 517-523, 1970

- R. MOUTON

Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay.
Rapport CEA R-3676-1968

- C. PAOLETTI, J.P. REBIERE, G. AUBIN, M. TUBIANA

Revue Française - Etude clin. et biol. 9, 950-955, 1964
"Effet de restauration leucocytaire par l'acide désoxyribonu-
cléique injecté à la souris Swiss après irradiation à 700 rads.
Influence de l'ingestion préalable de 2-aminoéthyl-isothiuronium
(AET) et de Thiogel".

- M. PISANI, M. de LUCA et A. ROSSI

Giorn.e Min. Derm. 45, 28-34, 1970

- A.M. RAUTH

Current topics, Radiation research 6, 195-248, 1970

- D. REGAN, R.B. SELTOW, W.L. CARRIER, W.H. LEE

"Molecular events following irradiation of human cells from
ultraviolet sensitive individuals".
Colloque de Radiobiologie d'Evian 1970.

- R.B. SETLOW, J.D. REGAN, J. GERMAN et W.L. CARRIER

"Evidence that XP cells do not perform the first step in the
repair of ultraviolet damage to their DNA".
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 64, 1035-1041, 1969

- W. SZYBALSKI

"Molecular events resulting in radiation injury repair and
sensitization of DNA".
Radiation Research suppl. 7, 147, 1967

- Bull. Soc. Franc. Derm. et Syph.

75, 31-32, 1968
76, 757-759, 844-845, 1969

- Sem. Hop. 45, 911-913, 1969

- R. DEGOS et LORTAT-JACOB F.

Précis de Dermatologie, "Atrophies" 264-265, 1965

- VENKATESAN T.V.

Xeroderma Pigmentosum "Report of nine cases".
Indian J. Derm. 14, 123-126, 1969

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages :</u>
I - <u>PREMIERE PARTIE</u>	
"Les mécanismes enzymatiques de réparation de l'ADN"	
1 - Introduction.. .. .	1
2 - Données récentes sur la fonction enzymatique de l'ADN	3
3 - Etude des enzymes de réparation	6
4 - Action spécifique de radiomodificateurs chimiques et d'agents mutagènes sur le système de réparation enzymatique de l'ADN	9
 II - <u>DEUXIEME PARTIE</u>	
"La réparation de l'ADN dans la maladie de Xeroderma Pigmentosum"	
1 - Comment se présente la maladie.	13
2 - Résultats de travaux récents.	14
 III - RESUME	28
 IV - CONCLUSION	30
 V - BIBLIOGRAPHIE	

